

学位論文審査の結果の要旨

氏名	大西 信太郎
審査委員	主査 手林 慎一 副査 佐藤 正資 副査 西脇 寿 副査 佐藤 周之 副査 加藤 伸一郎

論文名 植物由来生理活性物質の活用に関する研究

審査結果の要旨

天然に存在する化学物質は様々な生理活性を示す。そのような天然物は医薬品や健康補助食品、さらには農薬や食品添加物などに利用されている。このように天然物を産業利用するためには、天然資源から生理活性物質を探索・解明した後に、生理活性の特性解明や産業的な供給方法などを開発する必要がある。本論文では、野生植物から昆虫成長阻害活性をスクリーニングし活性物質を追究し食品保護成分開発の礎を作るとともに、ピーマン葉由来の生理活性を探索することで、ピーマンの品種間によるフラボノイド生産能を検証し、産業利用に適した品種群の選定に至った結果がまとめられている。

学位論文は4章から構成されており、その構成内容は以下の通りである。

第1章は緒言であり、研究背景と目的について述べられている。

第2章は昆虫の成長阻害物質を天然からスクリーニングし、コバノズイナ (*Itea virginica*) から阻害活性物質を同定し、食品保護剤としての有効性を提言している。具体的には、高知県野生の木本植物26種及び草本植物各76種を対象にスジコナマダラメイガ幼虫の成長阻害物質をスクリーニングし、27種の植物抽出液に成長阻害活性を確認した。それらの中から観賞用低灌木であるコバノズイナに注目して成長阻害物質の解明を行い、アイトールとD-アルロースを成長阻害活性物質として同定した。標準物質を用いた用量群間比較試験からアイトールとD-アルロースのEC₅₀値はそれぞれ15.7及び30.3 mg/g 餌と算出された。また、試験した最高用量である80 mg/g 餌においてアイトールでは97.0%の成長阻害活性が、D-アルロースでは75.2%の成長阻害活性が確認され、貯穀害虫の防除に十分有効な生理活性を示すことが確認された。特にD-アルロースはヒトに対する安全性が確立しており、貯蔵穀物や食品に直接混用可能な貯穀害虫の食害防止剤となり得るものと考えられた。アイトールにおいても同様に安全性に係る検討が行われれば、両物質を併用することでより広い作用スペクトルや高い効果が得られる可能性が示され、今後の製品開発が期待されることを提言している。

第3章はフラボノイドの一種ルテオリン(Lu)配糖体の破骨細胞分化抑制活性を確認した上で、Lu類生産に有用なピーマン品種群を見出すことに成功し、医薬品・健康補助食品への利用の可能性を提言している。具体的には、ピーマン *Capsicum annuum* の葉に含まれるフラボノイドであるルテオリンアピオシルグルコシド (LuGA)には農業害虫であるマメハモグリバエ (*Liriomyza trifolii*) に対する産卵行動阻害活性が存

在することから、このフラボノイド配糖体の害虫防除への利用が期待されてきた。さらに近年、アグリコンである Lu にはマウス前駆破骨細胞に対する分化抑制効果が報告され、破骨細胞の分化が影響する骨粗鬆症や関節リウマチ等への予防や症状改善への利用の可能性が示唆されており、より高付加価値が見込まれてきた。しかしながら当該効果のヒト細胞における確認がなされておらず、商用利用の障害となっていた。そこで、本研究では Lu 及びその配糖体類ルテオリングルコシド(LuG)・LuGA のヒト前駆破骨細胞に対する分化抑制効果を検討した。その結果、ヒト前駆破骨細胞の培養において分化誘導因子 RANKL 及び M-CSF による分化誘導と同時に薬剤処理を行うと、破骨細胞への分化の指標である酒石酸耐性酸性ホスファターゼ活性(TRACP)への阻害活性が確認された。Lu および LuG、LuGA の EC₅₀ はそれぞれ、16.0 μM、16.0 μM、22.1 μM であり、一般細胞毒性の EC₅₀ は 32.5 μM、28.9 μM、26.8 μM であった。いずれの Lu 類も TRACP 阻害活性は一般細胞毒性よりも低濃度で確認されたことから Lu 類はヒト破骨細胞に対して分化抑制活性を示すことを確認した。この報告はヒト細胞における初めての破骨細胞分化抑制活性の確認であるとともに、LuGA にも破骨細胞分化抑制活性を示すことを初めて確認できた。さらに Lu および LuG の分化開始 4 日後処理では活性は弱まるものの阻害は確認されたが、LuGA には一般細胞毒性が観察される一方で、TRACP 阻害活性は確認されず、Lu および LuG と、LuGA では作用機構が異なる可能性が示唆された。作用機構の詳細は今後の研究を待つ必要があるが、フラボノイドの糖化状態により生理活性が異なる点は興味深く、破骨細胞分化抑制活性に基く骨粗鬆症や関節リウマチ等への予防や症状改善への利用の可能性を広げるに至った。

この様に、ルテオリンは糖化状態によって細胞への作用や毒性が異なることから、*C. annuum* を用いて Lu 含有製剤を生産するためには、各品種におけるフラボノイドの糖化状態とその含有量をあらかじめ知ることが重要となる。そこで *C. annuum* 47 品種のフラボノイド含有量を調べたところすべての品種において LuG、LuGA の存在が確認されたが、遊離の Lu は確認できなかった。また LuG や LuGA の類縁体であるアピゲニングルコシド(ApG)及びアピゲニンアピオシルグルコシド(ApGA)も同時に確認されたため、これら 4 化合物の含有量のもとにクラスター解析をおこなった。その結果、クラスター A (n=30)及び B (n=17)に階層化され、更に B は B 1 (n=3)および B 2 (n=14)に階層化された。クラスター A および B に分類されたピーマン類、パプリカ類、シシトウ類、トウガラシ類の頻度に差はなく、*C. annuum* のタイプによるフラボノイド生産性の違いは確認されなかった。しかし、クラスター間でのフラボノイド生産性は有意に異なり小クラスター B 1 には総 Lu 量が 3 品種平均で 23.6 μmol/g fr. wt. も存在することが判明し、ルテオリン生産に有望な品種の探索に成功した。

第 4 章は結論であり、研究総括と産業利用への展望が述べられている。

以上のように、著者は天然資源から様々な生理活性物質を探索し、害虫に対する食品保護成分や骨粗鬆症の予防や症状改善成分を見出した。いずれも食経験のある比較的安全性が担保された物質であることから、天然由来の生理活性物質の実用化技術の開発に大きな知見を与えたものと考えられる。

本論文の公開審査会は令和 3 年 7 月 26 日にリモートシステムを利用して開催され、申請者の学位論文の口頭発表およびこれに関する質疑応答が行われた。引き続いて開催された学位論文審査委員会において、学位論文の内容を慎重に審査した結果、審査委員全員一致して博士(農学)の学位を授与するに値するものと判定した。